

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Bruna Pessoa Lobo Dias

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES DE CULTIVO NA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Acutodesmus
obliquus* EM UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

Florianópolis
2017

Bruna Pessoa Lobo Dias

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES DE CULTIVO NA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Acutodesmus
obliquus* EM UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido à Universidade Federal de
Santa Catarina como requisito para
obtenção do Grau de Bacharelado em
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Roberto Bianchini
Derner, Dr.

Coorientador: Biol. Rafael Garcia
Lopes, Dr.

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dias, Bruna Pessoa Lobo
INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES DE CULTIVO NA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Acutodesmus*
obliquus EM UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS
/ Bruna Pessoa Lobo Dias ; orientador, Roberto
Bianchini Derner, coorientador, Rafael Garcia
Lopes, 2017.
68 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de
Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

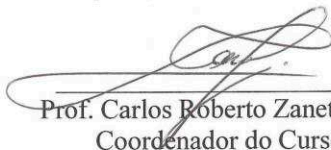
1. Ciências Biológicas. 2. Microalgas. 3. Regimes
de Cultivo. 4. *Acutodesmus obliquus*. 5. Sistema
Laminar de Cultivo de Algas. I. Derner, Roberto
Bianchini. II. Lopes, Rafael Garcia. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. IV. Título.

Bruna Pessoa Lobo Dias

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES DE CULTIVO NA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Acutodesmus
obliquus* EM UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

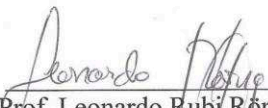
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para
obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas, e aprovado em
sua forma final pelo Centro de Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 29 de novembro de 2017.


Prof. Carlos Roberto Zanetti, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:


Prof. Roberto Bianchini Derner, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina


Prof. Leonardo Rubi Rörig, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina


Eng.ª de Aquicultura Renata Ávila Ozório, Dr.ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho à todos que
contribuíram para a minha caminhada
até aqui, em especial à minha mãe!

AGRADECIMENTOS

Apesar desta sessão estar no início da minha monografia, foi a última parte que eu me dediquei a escrever, pois sabia que seria a mais difícil, transcrever sentimentos em palavras. A ordem dos meus agradecimentos não reflete de maneira alguma a importância que cada um teve em minha vida e na realização deste trabalho, então apegue-se à essência das palavras escritas.

Minha eterna gratidão...

Aos meus orientadores, Roberto e Rafael, por guiarem meus passos e permitirem que este trabalho pudesse ser concluído. Eu me orgulho do que fiz, e vocês me ensinaram que isso é o mais importante.

Aos meus companheiros de laboratório, em especial àqueles que encarregaram-se do experimento em minha ausência, Néa, Herculano e Henrique. Obrigada à todo o grupo por me acolher e compartilhar seus conhecimentos sobre o universo das microalgas, tive sorte em fazer parte de uma equipe tão unida e motivada pelo o que faz. E continuem me chamando para os rodízios, comer também é o forte desta equipe!

Ao Felipe do Laboratório de Camarões Marinhos, por me ceder um espaço no alojamento durante os meses em que foram realizados os experimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Laboratório de Cultivo de Algas (LCA/UFSC) pelo apoio e financiamento deste trabalho.

Aos professores que durante a graduação me inspiraram com suas visões de mundo, tenham a certeza de que estão formando mais do que biólogos, estão moldando pessoas melhores para esse mundo.

Aos amigos do Sporum PET Biologia por cada sexta-feira. Existe extensão mais entrosada que essa? Eu acredito que não! Como diria Carl Sagan: “diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com vocês”.

Aos irmãos que a Biologia me deu, Jess, Ana, Beth, Dali, Mafra, Otávio, Carlos e Yoshiura. Sinto-me sortuda por tê-los em minha vida. Foram 5 anos incríveis, e cada um de vocês fizeram isso valer muito à pena. Obrigada por cada bar, e por me manterem sã nos momentos mais difíceis. Desejo sucesso a todos vocês amigos de profissão!

Ao meu amigo de infância Lucas, por todo o apoio nesta reta final. Você é o meu 1%, e também não consigo imaginar outra pessoa no seu lugar (foi real, eu tirei mesmo *print* disso)!

À família Zunder, por ter sido a minha segunda família durante a graduação. Saibam que tenho um carinho imenso por vocês.

À toda minha família, os que moram em Floripa e também aqueles que moram em Ribeirão Preto, nenhuma palavra será suficiente para agradecer por toda a base que vocês me deram. Quem me conhece sabe que o Natal é a minha época favorita do ano, e muito disso deve-se por termos a alcateia reunida.

À família que divide o mesmo teto comigo, e que acompanharam de perto todas as dificuldades e também minhas conquistas, mãe, Nelson, Juninho e João. Sabemos que nenhum de nós somos perfeitos, mas eu não trocaria vocês por nada!

Aos meus animais de estimação, que são muitos e também são parte da minha família. Sinto-me privilegiada por nossos caminhos terem se cruzado. O companheirismo de vocês estendeu-se até mesmo durante as noites de estudos em claro, acho que agora estou em dívida com vocês.

À minha mãe, que foi também minha companheira e melhor amiga durante toda a vida. Sei que minha dedicação aos estudos ocupou boa parte do meu tempo nos últimos anos, e talvez eu tenha deixado a desejar como filha. Peço desculpas. Você foi a pessoa que tornou esse sonho realidade, então esse diploma também é seu! Essa conquista foi apenas mais uma de nossa caminhada. Eu te amo.

À todos aqueles que eu injustamente tenha esquecido de mencionar neste trabalho e que tiveram um papel na minha trajetória até aqui, quero que saibam que a minha gratidão também se estende à vocês.

“As montanhas da vida não existem apenas para
que você chegue no topo, mas para que você
aprenda o valor da escalada.”
(Autor desconhecido)

RESUMO

As microalgas apresentam diversas funções na natureza, dentre estas destacam-se a produção de oxigênio e a composição da base de cadeias alimentares aquáticas. Além disso, também possuem grande potencial biotecnológico como o uso na alimentação animal e humana, na produção de compostos de interesse para a indústria farmacêutica e como matéria-prima para a produção de biocombustíveis. Estes assuntos fazem parte de importantes linhas de pesquisas onde, necessariamente são desenvolvidas culturas de microalgas para a produção de biomassa. Essa necessidade justifica os esforços na otimização da produção de biomassa, e com esse propósito foram desenvolvidos experimentos comparando diferentes regimes de cultivo no crescimento da microalga dulcícola *Acutodesmus obliquus* em um Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA) desenvolvido no Laboratório de Cultivo de Algas – LCA/UFSC. Foram realizados dois experimentos no SLCA: um em regime de batelada simples, que consistiu na adição de nutrientes na cultura apenas no primeiro dia de cultivo e no acompanhamento do crescimento da cultura microalgal até a fase estacionária; e um segundo experimento em regime semicontínuo, que consistiu na retirada periódica de um volume da cultura e a adição do mesmo volume de meio de cultura – visando manter a cultura em fase exponencial da curva de crescimento. No experimento em regime de batelada simples, a cultura atingiu a fase estacionária em 8 dias, onde a produtividade diária foi de $0,23 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, obtendo-se uma biomassa final de 400,64 g (peso seco). No experimento em regime semicontínuo, foram feitas 3 diluições ao longo do cultivo (21 dias). Neste cultivo, a produtividade diária foi de $0,32 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, obtendo-se no final do experimento 1.551,24 g em biomassa seca. Assim, os dados mostraram que o cultivo em regime semicontínuo foi mais adequado, uma vez que foi obtida maior produção em biomassa, além de atingida uma qualidade superior para alimentação e menor custo de produção à longo prazo.

Palavras-chave: Microalgas. Regimes de Cultivo. *Acutodesmus obliquus*. Sistema Laminar de Cultivo de Algas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas instalado no Laboratório de Cultivo de Algas – LCA/UFSC	26
Figura 2 – Foto em microscópio óptico mostrando células microalgais da espécie dulcícola <i>Acutodesmus obliquus</i>	33
Figura 3 – Culturas da microalga <i>Acutodesmus obliquus</i> sendo desenvolvidas em frascos de 5 L no Cultivo Inicial do Laboratório de Cultivo de Algas – LCA/UFSC.....	34
Figura 4 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Superfície de cultivo (A) e Reservatório (B).....	36
Figura 5 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Boia de nível (A) e Hidrômetro (B).....	37
Figura 6 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Injeção de CO ₂ (A) e Medidor de pH (B)	37
Figura 7 – Curva de crescimento da microalga <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	41
Figura 8 – Curva de crescimento da microalga <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	42
Figura 9 – Relação entre a produtividade líquida e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	43
Figura 10 – Relação entre a produtividade líquida e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	44
Figura 11 – Relação entre a produtividade na fase clara e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	45
Figura 12 – Relação entre a produtividade na fase clara e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	45
Figura 13 – Relação entre a perda noturna da biomassa e a temperatura no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	47
Figura 14 – Relação entre a perda noturna da biomassa e a temperatura no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	48
Figura 15 – Comparação entre as produtividades líquida, da fase clara e a perda noturna da biomassa no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	48

Figura 16 – Comparação entre as produtividades líquida, da fase clara e a perda noturna da biomassa no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	49
Figura 17 – Relação entre o consumo de nitrato e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples	50
Figura 18 – Relação entre o consumo de nitrato e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	51
Figura 19 – Relação entre a clorofila <i>a</i> , os carotenoides totais e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em batelada simples ...	52
Figura 20 – Relação entre a clorofila <i>a</i> , os carotenoides totais e a irradiância no cultivo de <i>A. obliquus</i> no SLCA em regime semicontínuo	53
Figura 21 – Comparação entre as irradiâncias nos regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo	55
Figura 22 – Comparação entre as temperaturas nos regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do meio de cultura LCA-AD baseado no meio Bold's Basal Medium – BBM (BOLD, 1949; BISCHOFF; BOLD, 1963), empregado nas culturas microalgais	35
Tabela 2 – Comparação de produtividades, perda noturna e produção de biomassa da microalga <i>Acutodesmus obliquus</i> no SLCA entre os regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo	54
Tabela 3 – Custo de produção de 1 kg de biomassa (em peso seco) da microalga <i>Acutodesmus obliquus</i> no SLCA em dois regimes de cultivo, batelada simples e semicontínuo	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LCA – Laboratório de Cultivo de Algas

SLCA – Sistema Laminar de Cultivo de Algas

Casan – Companhia Catarinense de Águas e Saneamento

Celesc – Centrais Elétricas de Santa Catarina S.A.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	ALGUMAS CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES DAS MICROALGAS	23
1.2	PANORAMA GERAL DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS	23
1.3	SISTEMAS DE CULTIVO.....	24
1.3.1	Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA).....	25
1.4	REGIMES DE CULTIVO: BATELADA SIMPLES E SEMICONTÍNUO	26
2	OBJETIVOS.....	29
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
3	METODOLOGIA	31
3.1	MATERIAL BIOLÓGICO	31
3.2	SELEÇÃO DA CEPA E CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	32
3.3	MODO DE OPERAÇÃO DO SLCA.....	35
3.3.1	Batelada Simples	37
3.3.2	Regime Semicontínuo.....	38
3.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA	41
4.2	PRODUTIVIDADE E PERDA NOTURNA DA BIOMASSA	41
4.3	CONSUMO DE NITRATO.....	49
4.4	CLOROFIA <i>a</i> E CAROTENOIDES TOTAIS.....	51
4.5	COMPARAÇÃO ENTRE REGIMES DE CULTIVO	53
4.6	ANÁLISE DE CUSTO DE PRODUÇÃO DA BIOMASSA	55
5	CONCLUSÕES	59
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	61
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

1.1 ALGUMAS CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES DAS MICROALGAS

As microalgas compreendem microrganismos que realizam fotossíntese oxigênica, possuem clorofila *a* como pigmento fotossintético primário, e ocorrem em quase todos os ambientes, sendo mais comumente encontradas nos ambientes aquáticos, onde atuam como os principais produtores primários da cadeia alimentar (LEE, 2008; GRAHAM et al., 2009).

A biomassa de microalgas tem diversas aplicações, entre elas, o uso na alimentação animal e humana, e a extração de compostos de interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Além disso, têm potencial uso para o tratamento de águas residuais e para a produção de biocombustíveis (TOMASELLI, 2004; DERNER et al., 2006; LOURENÇO, 2006).

De acordo com Lourenço (2006), uma das limitações existentes para o amplo uso de produtos derivados de microalgas no mercado é quanto à produção e aquisição de biomassa.

1.2 PANORAMA GERAL DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS

Os primeiros estudos sobre cultivo de microalgas se deram da metade para o final do século XIX, contudo, foram nos últimos 70 anos que, com o aumento do número de pesquisadores trabalhando na área, a velocidade de produção de conhecimento e diversificação das áreas de estudo avançaram (LOURENÇO, 2006; BOROWITZKA; MOHEIMANI, 2013).

No Brasil, o início do cultivo de microalgas se deu na década de 70, no Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. Posteriormente, a produção de microalgas foi intensificada em outras regiões do país, conforme o surgimento de novos laboratórios e instituições educacionais (LOURENÇO, 2006). Esse pode ser considerado um primeiro momento do início do cultivo de microalgas no Brasil. Mais tarde, na década de 80, tem-se um segundo momento na produção de microalgas, impulsionado pela Aquicultura. E a partir do ano 2000, um terceiro momento pode ser identificado com o surgimento das pesquisas entorno da produção de biocombustíveis a partir da biomassa de microalgas (informação verbal)¹.

¹ Informação fornecida pelo Prof. Roberto Bianchini Derner – Laboratório de Cultivo de Algas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.

O cultivo de microalgas hoje no Brasil se dá, predominantemente, no âmbito de instituições de pesquisa e ensino (LOURENÇO, 2006).

Atualmente, as microalgas produzidas em maior quantidade e com maior valor de mercado no mercado mundial são as pertencentes aos gêneros *Chlorella*, *Cryptocodinium*, *Haematococcus* e *Spirulina* (DERNER et al., 2006; BOROWITZKA; MOHEIMANI, 2013). Nos cultivos microalgais, o regime amplamente empregado para crescimento da cultura é a batelada ou cultivo estacionário, inclusive em escala comercial (LEE, 2016), pois caracteriza-se como sendo um regime de cultivo mais fácil, porém menos eficiente e sua qualidade pode ser inconsistente (LAVENS; SORGELOOS, 1996).

Alguns países que destacam-se na obtenção de biomassa de microalgas são: EUA, Canadá, França, Austria e Alemanha, devido principalmente à atividade industrial em larga escala realizada por grandes empresas (DERNER et al., 2006).

O custo elevado de produção das microalgas é devido a uma combinação entre a espécie cultivada e a escala de produção relativamente pequena empregada nos sistemas de cultura individuais (BOROWITZKA; MOHEIMANI, 2013).

1.3 SISTEMAS DE CULTIVO

Os sistemas de cultivo para a produção de microalgas podem ser classificados basicamente em dois grupos, sistemas de cultivo aberto e sistemas de cultivo fechado. O primeiro, caracteriza-se por ser de menor custo em relação ao segundo, pois geralmente é instalado ao ar livre (*outdoor*), sendo possível utilizar a luz solar como fonte de energia, enquanto os sistemas fechados são usualmente instalados em ambientes cobertos (*indoor*), o que resulta em gastos com energia elétrica para a iluminação. (BOROWITZKA, 1999).

Os sistemas de cultivo aberto e *outdoor*, apesar da economia no quesito iluminação, estão submetidos às condições ambientais naturais como, iluminação diurna de intensidade variável do amanhecer ao anoitecer, e à escuridão completa do período noturno (RICHMOND, 2004). Além disso, na maioria dos sistemas abertos são encontradas outras grandes dificuldades, como o maior potencial de contaminação das culturas, e a alta coluna d'água que não permite grandes concentrações de microalgas, devido à baixa penetração da luz solar na cultura (RICHMOND, 2004; KANEMOTO, 2012). Exemplos convencionais destes sistemas são: tanques, *raceways* e lagoas rasas.

Um exemplo clássico de sistema de cultivo fechado são os fotobiorreatores, onde a luz, comumente proveniente de iluminação artificial, deve atravessar as paredes transparentes do fotobiorreator, chegando ao centro da cultura e assim, ficando disponível para todas as células microalgais. Este sistema, apesar de ser economicamente mais caro, apresenta vantagens como o controle preciso dos parâmetros e condições de cultivo, diferenciando-se dos sistemas de cultivo aberto principalmente devido ao controle da iluminação e temperatura. Além do baixo risco de contaminação das culturas (TREDICI, 2004).

1.3.1 Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA)

O Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA) caracteriza-se como sendo um sistema de cultivo aberto e *outdoor*, de custo intermediário - quando comparado a outros sistemas de cultivo aberto e sistemas de cultivo fechado *outdoor* -, capaz de alcançar produtividades volumétricas semelhantes e até superiores às daquelas dos fotobiorreatores devido à sua alta relação superfície volume ($S/V = 48 \text{ m}^{-1}$), e que, por conta da elevada concentração de biomassa, possui baixo risco de contaminação.

Além de possuir todos os pontos positivos de um sistema aberto, o SLCA supera outros tipos convencionais de sistemas de cultivo aberto, pois não apresenta dificuldades características como alta coluna d'água, baixas concentrações de biomassa e, consequentemente, maior potencial de contaminação.

Esse tipo de sistema de cultivo com superfícies inclinadas já tem sido empregado para cultivos de *Scenedesmus* sp. em países de clima temperado como República Tcheca e Bulgária, porém essa produção de biomassa é restrita a apenas alguns períodos do ano (PANIAGUA-MICHEL, 1995). Segundo Lourenço (2006), as condições ambientais existentes em países de clima tropical supostamente permitiriam maiores rendimentos de biomassa em sistemas de cultivo com superfícies inclinadas, quando comparado a países de clima temperado.

Visando o desenvolvimento de estudos científicos e tecnológicos, foi construído no Laboratório de Cultivo de Algas (LCA/UFSC) um SLCA (Figura 1), que possui $5,76 \text{ m}^2$ de superfície de cultivo (dimensões: $1,20 \text{ m} \times 4,80 \text{ m}$), com $1,0 \text{ cm}$ de coluna d'água e volume total de 128 L , onde, 58 L compreendem o volume de trabalho (aquele que se encontra na superfície do SLCA) (VENÂNCIO, 2016).

Figura 1 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas instalado no Laboratório de Cultivo de Algas – LCA/UFSC.



Fonte: Bruna Lobo (2017).

O SLCA é caracterizado como um sistema de alta produtividade, destinado à produção massiva de biomassa. Contudo, outros fatores influenciam na produção de biomassa além do sistema de cultivo, como por exemplo, espécie cultivada, disponibilidade de nutrientes, irradiância, temperatura, oferta de CO_2 , contaminação, e dentre tantos outros fatores de influência um dos pouco estudados são os regimes de cultivo.

Devido à sua recente instalação do SLCA no LCA/UFSC ainda não haviam sido desenvolvidos experimentos em diferentes regimes de cultivo. Além disto, não há registros na literatura de cultivos em regime semicontínuo em Sistemas Laminares, o que justifica a realização deste trabalho.

1.4 REGIMES DE CULTIVO: BATELADA SIMPLES E SEMICONTÍNUO

O regime de cultivo é um dos fatores de influência no crescimento da cultura microalgal.

O regime de batelada simples consiste em transferir um inóculo para um sistema de cultivo com meio de cultura uma única vez, sem que ocorra a adição de mais nutrientes ao longo do período de cultivo (LAVENS; SORGELOOS, 1996). Neste regime a biomassa permanece

na cultura até o final do processo de cultivo, onde acompanha-se o crescimento microalgal até que os nutrientes se esgotem e a cultura atinja a fase estacionária, ou até que alcance a fase da curva de crescimento desejada. O tempo para que a cultura atinja a biomassa máxima neste regime de cultivo irá variar conforme a fisiologia da espécie cultivada (SOARES, 2010).

O regime semicontínuo consiste em retirar um volume pré-estabelecido da cultura de microalga e substituí-lo pelo mesmo volume de meio de cultura, fazendo com que as células microalgais permaneçam na fase de crescimento exponencial por um período prolongado. Neste regime de cultivo a cultura mantém-se crescendo, sem fatores limitantes (SANTOS, 2016). O cultivo geralmente é encerrado quando há a contaminação da cultura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o efeito de dois regimes de cultivo: batelada simples e regime semicontínuo; sobre o crescimento da microalga *Acutodesmus obliquus* em um Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os parâmetros de crescimento em termos da biomassa máxima alcançada, produtividade volumétrica e produção de biomassa nas culturas de *A. obliquus* em ambos os regimes;
- Comparar o crescimento e a produtividade em biomassa, nos diferentes regimes de cultivo, relacionando com a iluminação, temperatura e consumo de nutrientes;
- Analisar o custo de produção da biomassa nos cultivos em regime de batelada simples e semicontínuo.

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

A espécie *Acutodesmus obliquus* foi descrita inicialmente por Turpin, em 1828, onde foi classificada como sendo a espécie *Achnanthes obliqua*. Desde então teve seu enquadramento taxonômico revisto duas vezes, por Kützing (1833), onde a espécie passou a ser classificada como *Scenedesmus obliquus*, e novamente por Hegewald e Hanagata (2000), no qual encontra-se até hoje como pertencente ao:

Domínio Eukaryota
Reino Plantae
Sub-reino Viridaeplantae
Filo Chlorophyta
Classe Chlorophyceae
Ordem Sphaeropleales
Família Scenedesmaceae
Gênero *Acutodesmus*
Espécie *Acutodesmus obliquus*

O nome *Achnanthes obliqua* não é mais aceito para a espécie atual, e o nome *Scenedesmus obliquus* é atualmente adotado como um sinônimo para a espécie *Acutodesmus obliquus* (WORMS EDITORIAL BOARD, 2015).

As células da microalga *A. obliquus* apresentam formato diverso, variando entre elipsoides, ovóides, fusiformes ou lunadas, podendo formar colônias denominadas cenóbios. O cenóbios são arranjos planos e compostos geralmente por 2, 4 ou 8 células, dispostas lado a lado com o eixo mais longo paralelo entre si. Na região central de cada célula há sempre um pirenoide, facilmente encontrado por microscopia óptica (ANDRADE; FILHO, 2014).

Dentre as microalgas Clorófitas, o gênero *Scenedesmus* apresenta grande robustez e crescimento acelerado, sendo utilizado na aquicultura para alimentação de organismos aquáticos (TAVARES; ROCHA, 2003; LOURENÇO, 2006).

A composição nutricional da espécie *A. obliquus* subdivide-se em: 50-56% de proteínas, 10-17% de carboidratos, 12-14% de lipídeos e 3-6% de ácidos nucleicos da biomassa em peso seco, apresentando-se como uma fonte de obtenção de proteínas superior em comparação a

outras fontes alimentares humana e animal como ovos, músculo da carne e soja (BECKER, 1994).

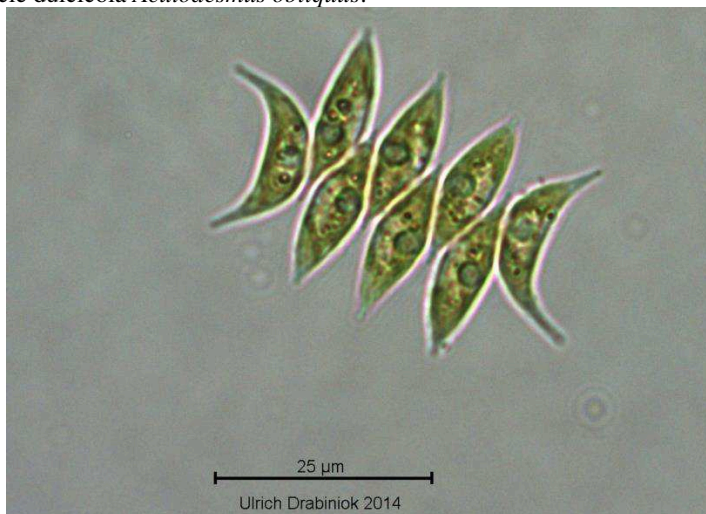
Outra possível aplicação muito promissora do gênero *Acutodesmus* é na produção de biocombustíveis, pois esta microalga apresenta como principal componente dos carboidratos a glicose (75-81% dos carboidratos totais na espécie *A. obliquus*), que pode ser utilizada na produção do bioetanol (HO et al., 2017). Os lipídeos também mostraram-se viáveis para a produção do biodiesel com propriedades aceitáveis para os padrões europeus e da “American Society for Testing Material” (BAKY et al., 2012). Outros autores também apontam para a viabilidade do cultivo de *Scenedesmus* aliado ao tratamento de águas residuais para a produção do biodiesel, pois o gênero é resistente às condições de cultivo, podendo acumular alto teor de lipídeos sob condições de estresse (XIN, 2010; BASU et al., 2014; HAKALIN, 2014).

Segundo o experimento realizado por Mandal e Mallick (2012), uma cultura de *Acutodesmus obliquus* foi mantida em sistema de cultivo aberto e *outdoor* ao longo de um ano com níveis comparáveis de produtividade, onde durante todo o período de cultivo se manteve como uma cultura monoalgal. Assim, a robustez desta microalga demonstra o potencial desta espécie como um modelo para cultivos em condições externas e em larga escala (massivo).

3.2 SELEÇÃO DA CEPA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para a realização deste estudo foi empregada uma cepa da microalga dulcícola *Acutodesmus obliquus* (Figura 2) obtida do Banco de Cepas do Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado na Estação de Maricultura Professor Elpídio Beltrame, Barra da Lagoa – Florianópolis, SC. A cepa de *A. obliquus* foi mantida no meio LCA-AD (Tabela 1), em câmara de germinação sob condições de temperatura constante (18 °C) e fotoperíodo de 8 h de luz e 16 h de escuro (8:16), com irradiância de 40 $\mu\text{mol ftons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Figura 2 – Foto em microscópio óptico mostrando células microalgais da espécie dulcícola *Acutodesmus obliquus*.



Disponível em:

http://www.planktonforum.eu/index.php?id=33&no_cache=1&L=1&tx_pydb_pi1%5Bstart%5D=200&tx_pydb_pi1%5Bdetails%5D=30522&tx_pydb_pi1%5Bcur%5D=95. Acesso em: 9 set. 2017.

Uma cultura de *A. obliquus*, com volume de 500 mL, foi transferida do Banco de Cepas para o Cultivo Inicial, onde foram desenvolvidos cultivos sequenciais em sistema de batelada alimentada, utilizando-se o meio LCA-AD, com aumento semanal do volume, até que atingisse o volume de 5 L (8 frascos de 5 L = 40 L) (Figura 3). As condições de cultivo foram mantidas constantes com temperatura de 22 °C e fotoperíodo de 24 h de luz (24:0), com irradiância de $690 \mu\text{mol fotons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e aeração contínua, onde, a partir do volume de 2 L foi empregado agitação com ar atmosférico enriquecido com 0,5% de CO_2 .

Com 10 dias de cultivo a concentração de biomassa nas culturas de 5 L de *A. obliquus* alcançou valores entre 3,0 a 4,0 g.L^{-1} , quando então foram empregadas como inóculo no Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA). O SLCA foi inoculado com esta elevada concentração de biomassa para que não houvesse um possível fenômeno de fotoinibição decorrente do excesso de luz nos primeiros dias de cultivo, o que poderia causar uma diminuição das taxas fotossintéticas a partir do valor de saturação da luz (RICHMOND, 2004).

Figura 3 – Culturas da microalga *Acutodesmus obliquus* sendo desenvolvidas em frascos de 5 L no Cultivo Inicial do Laboratório de Cultivo de Algas – LCA/UFSC.



Fonte: Bruna Lobo (2017).

A inoculação do SLCA se deu no período noturno (20:00), que foi mantido em circulação contínua, para que houvesse aclimação das células algais às condições ambientais naturais de temperatura. Segundo Venkataraman e Becker (1985), mesmo espécies resistentes à grandes intensidades de luz solar, como culturas de *Scenedesmus*, é desejável que a inoculação ocorra no período noturno para evitar a fotoxidação e o branqueamento das células microalgais.

Para o cultivo em regime de batelada simples, o experimento foi iniciado no dia seguinte à inoculação. Já para o cultivo em regime semicontínuo, o experimento foi iniciado apenas quando foi atingida a biomassa inicial pré-estabelecida para este segundo experimento (Item 3.2.2), visto que nenhum outro sistema de cultivo do LCA permitia ser alcançada tal biomassa.

As soluções de nutrientes do meio LCA-AD foram preparadas pela diluição de reagentes de padrão analítico em água filtrada (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição do meio de cultura LCA-AD baseado no meio Bold's Basal Medium – BBM (BOLD, 1949; BISCHOFF; BOLD, 1963), empregado nas culturas microalgais.

Meio de Cultura LCA-AD					
		Vol. Usado	[Estoque]	Massa	[Meio de Cultura]
		mL.L ⁻¹	g.L ⁻¹	Molar	mM
Soluções de Macronutrientes					
1 ^a	NaNO ₃	10	100	85	1,18
1B	CaCl ₂ .2H ₂ O	10	2,50	147	1,70 x 10 ⁻²
1C	K ₂ HPO ₄	10	2,50	174,2	1,43 x 10 ⁻²
	KH ₂ PO ₄		5,83	136,1	2,96 x 10 ⁻²
	NaCl		2,50	58,4	4,28 x 10 ⁻²
1D	MgSO ₄ .7H ₂ O	10	7,50	246,5	3,04 x 10 ⁻²
Solução de Boro					
2	H ₃ BO ₃	1	11,42	61,8	1,85 x 10 ⁻¹
Solução EDTA Alcalina					
3	EDTA	1	50	372,2	1,34 x 10 ⁻¹
	KOH		31	56,1	5,53 x 10 ⁻¹
Solução de Ferro Acidificado					
4	FeSO ₄ .7H ₂ O	1	4,98	278	1,79 x 10 ⁻²
	H ₂ SO ₄		1 mL.L ⁻¹	98,1	1,88 x 10 ⁻²
Soluções de Traços de Metais					
5 ^a	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1	8,82	287,5	3,07 x 10 ⁻²
5B	MnCl ₂ .4H ₂ O	1	1,44	197,9	7,28 x 10 ⁻³
5C	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	1	6,10	1236	4,93 x 10 ⁻³
5D	CuSO ₄ .5H ₂ O	1	1,57	249,7	6,29 x 10 ⁻³
5E	CoCl ₂ .6H ₂ O	1	0,385	237,9	1,62 x 10 ⁻³
Obs.: Todos os reagentes são de grau analítico.					

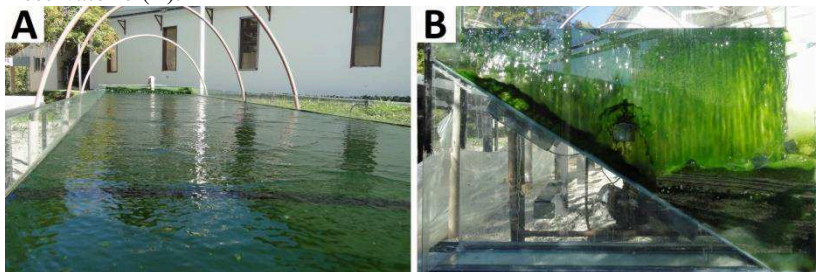
Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

3.3 MODO DE OPERAÇÃO DO SLCA

Durante todo o período de cultivo, foram coletadas diariamente amostras de 50 mL da cultura no início da manhã e no final da tarde (08:00 e 18:00, respectivamente) para a realização de análises de nitrato (μM), turbidez (NTU), densidade celular (células.mL⁻¹x10⁴) e concentração de biomassa em peso seco (g.L⁻¹). As análises de clorofila *a* ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e carotenoides totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) foram realizadas no início, meio e final de cada dia durante todo o período de cultivo (08:00, 12:00 e 18:00, respectivamente).

Os valores de pH, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (% de saturação e mg.L^{-1}), irradiância ($\mu\text{mol fotons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e evaporação (m^3) foram amostrados de 2 h em 2 h do início da manhã ao final da tarde (08:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 e 18:00), em pontos de amostragem pré-definidos no SLCA. No meio da superfície de cultivo foi feita a coleta de dados de irradiância através de um irradiômetro (Light Meter modelo LI-250A), no final da superfície de cultivo foram coletados os dados de temperatura e oxigênio dissolvido através de um medidor de oxigênio (YSI modelo ProODO), e no reservatório os dados de pH através de um pHmetro (YSI EcoSense modelo pH100A) (Figuras 4 A e 4 B).

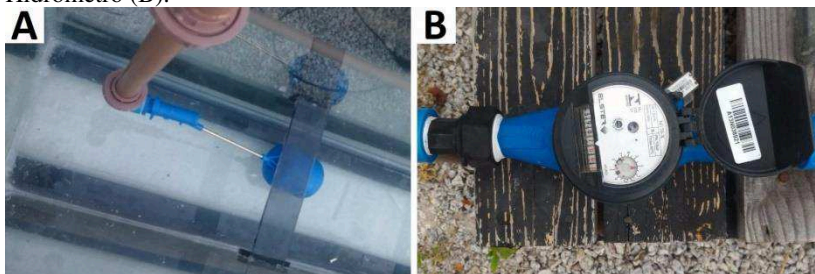
Figura 4 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Superfície de cultivo (A) e Reservatório (B).



Fonte: Bruna Lobo (2017).

A fim de manter constante o volume de água no sistema, a água perdida devido à evaporação foi reposta quando necessário, para tanto foi empregada uma boia de nível (Figura 5 A) instalada no reservatório do SLCA. O volume de água repostado foi aferido através de um hidrômetro (Elster modelo M170) instalado na tubulação de reposição de água do SLCA (Figura 5 B).

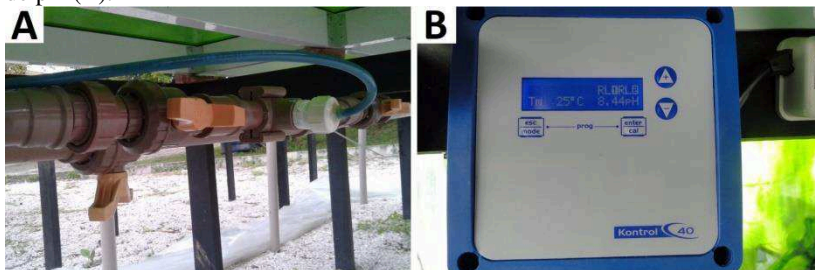
Figura 5 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Boia de nível (A) e Hidrômetro (B).



Fonte: Bruna Lobo (2017).

A injeção de CO_2 pressurizado para aumento da oferta de carbono – uma vez que culturas microalgais superintensivas demandam um percentual de CO_2 maior do que aquele encontrado na atmosfera – se deu através de uma pedra difusora de CO_2 , fabricada em aço-inox com porosidade de 2 μm , acoplada na tubulação de recalque do SLCA (Figura 6 A). Esse aumento na oferta de carbono foi controlado através do pH da cultura, onde o CO_2 foi injetado toda vez que o pH atingiu 8,5 e era interrompido quando o pH baixava para 8,0. Esse controle ocorreu através de um medidor modelo Kontrol 40 (Figura 6 B) conectado a um sensor de pH, conforme descrito por Venâncio (2016).

Figura 6 – Sistema Laminar de Cultivo de Algas: Injeção de CO_2 (A) e Medidor de pH (B).



Fonte: Bruna Lobo (2017).

3.3.1 Batelada Simples

No primeiro experimento realizado no SLCA foi empregado o regime de batelada simples, onde os nutrientes foram repostos para 100% da sua concentração às 8 h da manhã do primeiro dia de cultivo

(T0), com base na concentração de nitrato (N-NO_3). Sendo assim, o nitrato no T0 foi reajustado para manter uma concentração de $164,64 \text{ mg.L}^{-1}$, e os demais nutrientes foram reajustados proporcionalmente à concentração de nitrato, considerando-se que todos os nutrientes contidos no meio LCA-AD são também consumidos na mesma proporção que o nitrato.

3.3.2 Regime Semicontínuo

No segundo experimento realizado no SLCA foi empregado o regime semicontínuo. A partir de valores de biomassas conhecidos, através do experimento em regime de batelada alimentada com a microalga *Acutodesmus obliquus*, realizado por Venâncio (2016), neste experimento realizado em regime semicontínuo foi monitorada a concentração de biomassa em peso seco duas vezes por dia (08:00 e 18:00). Sendo assim, a biomassa inicial e a biomassa de corte pré-estabelecidas foram $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $6,0 \text{ g.L}^{-1} (\pm 0,2 \text{ g.L}^{-1})$, respectivamente, pois apesar da velocidade de crescimento neste intervalo não ser a mais alta, quando comparada a outros intervalos dentro da curva de crescimento do cultivo realizado por Venâncio (2016), esta é a que possui a melhor relação entre velocidade de crescimento, contaminação e fotoinibição. Estes 3 fatores também foram determinantes para a escolha deste intervalo, considerando-se que biomassas mais baixas que $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ poderiam facilitar a contaminação do cultivo, e biomassas superiores a $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ poderiam causar um efeito indesejado de fotolimitação e interferir no crescimento da cultura. Cada vez que a cultura atingia a biomassa de corte ($6,0 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$), uma parte da cultura era retirada do SLCA e, logo após, o mesmo volume de meio de cultura LCA-AD era repostado, mantendo assim a biomassa inicial pré-estabelecida ($4,0 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$), dando-se início a um novo ciclo de produção de biomassa.

3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

A determinação da concentração de nitrato do meio de cultura foi realizada conforme o método colorimétrico (HACH 8039) onde, a partir de 10 mL do meio filtrado das amostras, diluído dez vezes com água de osmose reversa, foi adicionado o reagente para análise de nitrato Nitrover 5, agitando-se durante 2 min e deixando-o reagir em repouso por mais 15 min, para posterior medição em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm.

A biomassa da cultura foi determinada através do método gravimétrico (APHA, 2005), filtrando-se 10 mL da cultura em microfiltros de fibra de vidro tipo GF1 (Macherey-Nagel, com porosidade 0,7 µm), que foram mantidos em estufa a 60 °C por um período de 24 h (até peso constante). Após esta etapa, as amostras foram esfriadas em dessecadora a vácuo por um período de 30 min, para posterior pesagem. A biomassa (em peso seco) foi determinada pela equação abaixo:

$$[B] = \frac{(Mf - Mi)}{V} \times 1000$$

Onde:

[B] = Concentração de Biomassa (g.L⁻¹)

Mf = Massa Final do Filtro (g)

Mi = Massa Inicial do Filtro (g)

V = Volume de Cultura Filtrado (mL)

A produção total de biomassa foi determinada de maneira distinta entre os regimes de batelada e semicontínuo, através das equações abaixo:

Batelada:

$$PT = [B]f \times Vt$$

Onde:

PT = Produção Total de Biomassa (g)

[B]f = Concentração de Biomassa Final (g)

Vt = Volume Total do SLCA (L)

Semicontínuo:

$$PT = ([B]d1 \times Vd) + ([B]d2 \times Vd) + ([B]d3 \times Vd) + ([B]f \times Vt)$$

Onde:

PT = Produção Total de Biomassa (g)

[B]d1 = Concentração de Biomassa na Diluição 1 (g)

[B]d2 = Concentração de Biomassa na Diluição 2 (g)

[B]d3 = Concentração de Biomassa na Diluição 3 (g)

[B]f = Concentração de Biomassa Final (g)

Vd = Volume de Cultura Retirado na Diluição (L)

Vt = Volume Total do SLCA (L)

A determinação da densidade celular das culturas foi realizada utilizando-se a Câmara de Neubauer para contagem das células microalgais em microscópio óptico.

Para determinação da concentração de clorofila *a* e dos carotenoides totais foram filtrados 5 mL das culturas em microfiltros de fibra de vidro tipo GF6 (Macherey-Nagel, com porosidade 0,6 µm), que foram congelados em freezer (-20 °C) para posterior análise. Ao final do experimento os filtros foram macerados, após esta etapa o material foi ressuspendido em acetona 90%, onde a clorofila *a* e os carotenoides totais foram aferidos através de um espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 480 e 510 nm para os carotenoides totais, e 647 e 664 nm para a clorofila *a* (STRICKLAND; PARSONS, 1972; JEFFREY; HUMPHREY, 1975; HUMPHREY, 1979).

A produtividade volumétrica (g.L⁻¹.d⁻¹) foi determinada através da equação abaixo:

$$PV = \frac{[B]t2 - [B]t1}{t2 - t1}$$

Onde:

PV = Produtividade Volumétrica (g.L⁻¹.d⁻¹)

[B]t2 = Concentração de Biomassa no Tempo 2 (g.L⁻¹)

[B]t1 = Concentração de Biomassa no Tempo 1 (g.L⁻¹)

t2= Tempo 2 (dia)

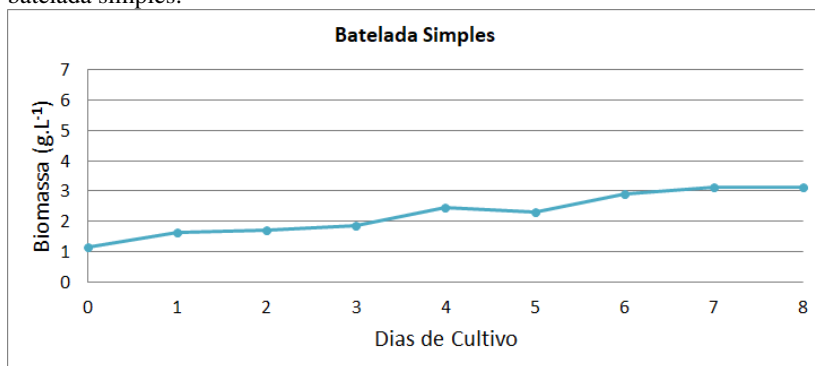
t1= Tempo 1 (dia)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA

No primeiro experimento, em regime de batelada simples, a concentração de biomassa em peso seco do inóculo foi de $0,93 \text{ g.L}^{-1}$. Após 8 dias de cultivo no SLCA a cultura atingiu a fase estacionária, onde a biomassa máxima alcançada foi de $3,13 \text{ g.L}^{-1}$ (Figura 7). O fator limitante para o crescimento da cultura neste caso foi a privação de nutrientes, já que na batelada simples os nutrientes foram adicionados apenas no primeiro dia de cultivo (T0).

Figura 7 – Curva de crescimento da microalga *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.

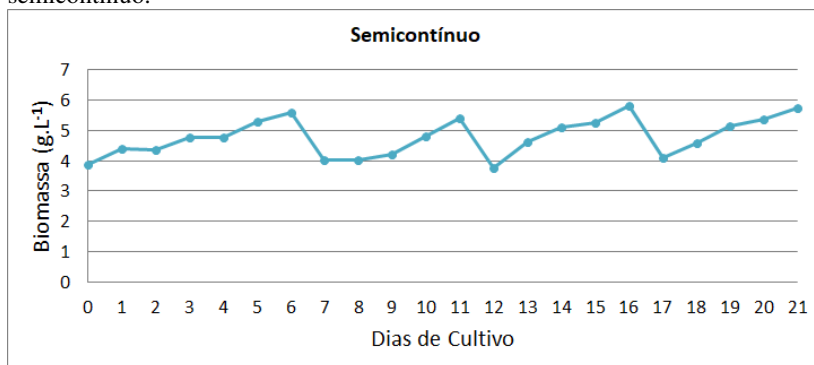


Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

No segundo experimento, em regime semicontínuo, a concentração de biomassa em peso seco do inóculo foi de $3,88 \text{ g.L}^{-1}$, onde foram realizados 4 ciclos de cultivo, intercalados por 3 diluições (cada vez que a cultura atingiu a biomassa de corte, correspondente a $6,0 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$), onde a primeira diluição foi de 34% durante o dia (T7), a segunda diluição foi de 36% durante a noite (entre o T11 e o T12) e a terceira diluição foi de 32% também durante a noite (entre o T16 e o T17) (Figura 8). Ao final dos 4 ciclos de cultivo o experimento foi encerrado (21 dias). Neste caso parece não ter havido um fator limitante para o crescimento, já que segundo o trabalho realizado por Venâncio (2016), a microalga *Acutodesmus obliquus* continuou em fase exponencial de crescimento após a biomassa atingir a concentração de 6 g.L^{-1} no SLCA, indicando que nesta concentração a luz possivelmente não seria um fator limitante. Os nutrientes também supostamente não

limitaram o crescimento neste caso, já que a adição de nutrientes acontecia sempre que a concentração de nitrato na cultura estava abaixo de 20 mg.L^{-1} ou toda a vez que a cultura fosse diluída.

Figura 8 – Curva de crescimento da microalga *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

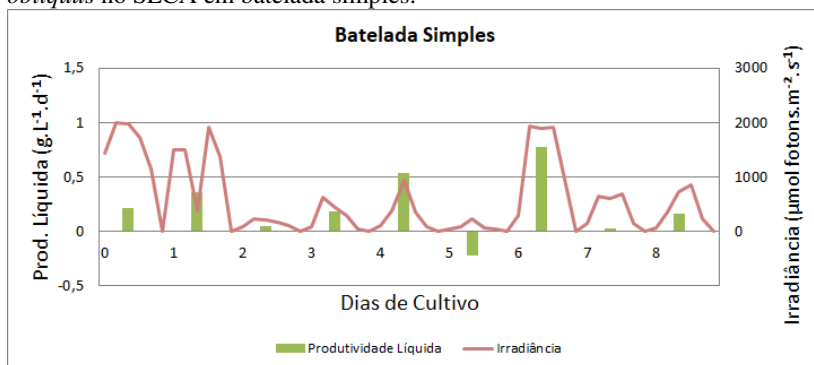
4.2 PRODUTIVIDADE E PERDA NOTURNA DA BIOMASSA

A produtividade volumétrica foi calculada de duas formas, a primeira considerando-se o crescimento em um período de 24 h, produtividade líquida, e a segunda considerando-se o crescimento apenas no intervalo entre 08:00 e 18:00 (produtividade na fase clara), uma vez que, durante à noite (entre 18:00 e 08:00 do dia seguinte) ocorre a perda noturna da biomassa, causada pela respiração celular.

A relação entre a produtividade líquida e a irradiância dos cultivos em batelada simples e semicontínuo são apresentadas nas Figuras 9 e 10, respectivamente. No cultivo em regime de batelada simples a produtividade líquida média foi de $0,23 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, onde a maior produtividade observada foi $0,77 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T6 de cultivo, e a menor produtividade foi de $-0,22 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T5 de cultivo (Figura 9). Já no regime semicontínuo a produtividade líquida média foi de $0,32 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, onde a maior produtividade líquida observada foi $0,59 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T14 de cultivo, e a menor produtividade foi de $-0,15 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T4 de cultivo (Figura 10). A ocorrência de valores negativos de produtividade líquida deve-se ao fato da perda noturna da biomassa ser maior do que a produtividade da fase clara, em virtude de dias nublados e/ou chuvosos, onde têm-se uma baixa variação da irradiância, ocasionando então em uma produtividade líquida negativa.

A produtividade está diretamente relacionada com a irradiância e a disponibilidade de nutrientes no meio, logo, em dias com maior irradiância e nutrientes disponíveis a produtividade tende a ser maior.

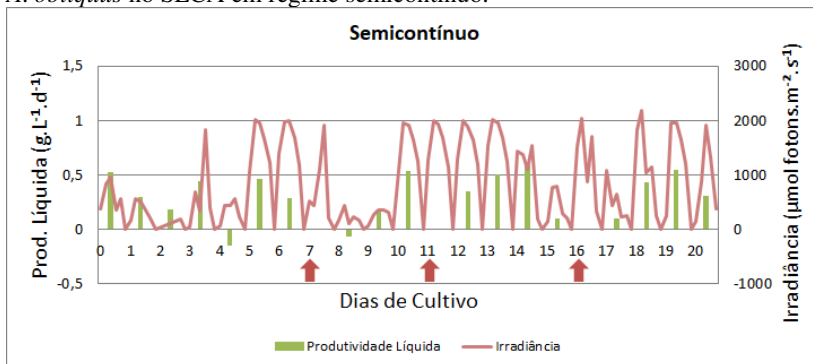
Figura 9 – Relação entre a produtividade líquida e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

No gráfico correspondente ao regime semicontínuo (Figura 10), as setas vermelhas (T7, T11 e T16) correspondem aos dias em que houve as diluições da cultura, não sendo possível calcular a produtividade líquida. Na primeira diluição (T7) foi retirado 43 L de cultura do SLCA, correspondente a uma biomassa de 258,36 g (peso seco). Na segunda diluição (T11) foi retirado 46 L de cultura, correspondente a 290,87 g. Na terceira diluição (T16) o volume de cultura retirado foi de 41 L, gerando 239,68 g em biomassa.

Figura 10 – Relação entre a produtividade líquida e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



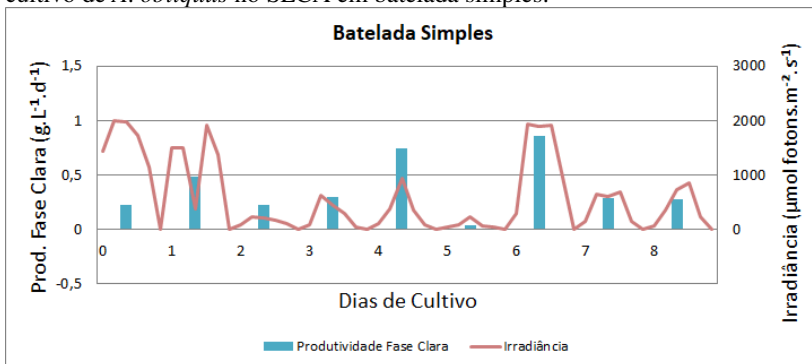
As setas vermelhas indicam os dias em que a cultura foi diluída, impossibilitando o cálculo da produtividade líquida.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

A produtividade da fase clara corresponde ao crescimento da cultura microalgal no intervalo entre 08:00 e 18:00, em que há maior presença de luz. Em ambos os regimes de cultivo há uma tendência do ganho em biomassa em acompanhar as flutuações da irradiância, sendo as maiores produtividades da fase clara observadas nos dias com alta irradiância. Neste regime de cultivo, a produtividade média da fase clara foi de $0,38 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, onde a maior produtividade observada foi $0,86 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T6 de cultivo, e a menor produtividade foi de $0,04 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T5 de cultivo (Figura 11). Já no regime semicontínuo a produtividade média da fase clara foi de $0,58 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, onde a maior produtividade líquida observada foi $0,93 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T11 de cultivo, e a menor produtividade foi de $0,21 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, no T8 de cultivo (Figura 12).

No cultivo em batelada simples (Figura 11), houve o esgotamento dos nutrientes disponíveis na cultura no T4 de cultivo, porém esse esgotamento não significa que a cultura não possa crescer nos próximos dias, pois o consumo de nitrato que está sendo aferido não refere-se a um consumo empregado no crescimento celular e/ou ganho em biomassa, e sim a uma internalização desses nutrientes pelas células microalgais, podendo armazená-los em seu interior. Este feito é também conhecido como consumo luxuriante (DORTCH et al., 1984; POWELL et al., 2009; ADAMS et al., 2013).

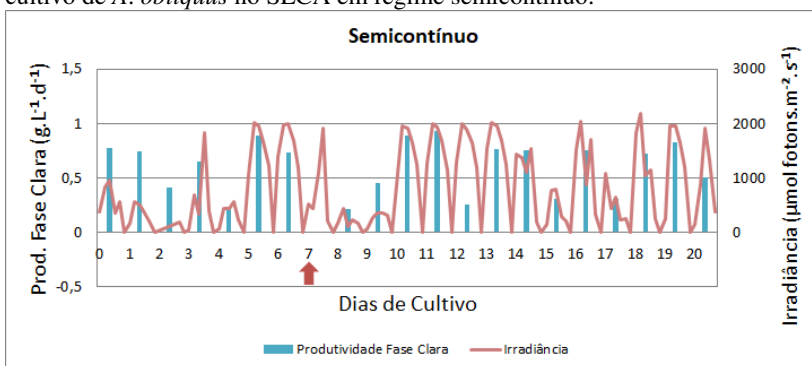
Figura 11 – Relação entre a produtividade na fase clara e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

No regime semicontínuo (Figura 12), a seta em vermelho observada no T7 de cultivo corresponde ao dia em que houve uma diluição da cultura, no intervalo entre as duas medições de biomassa da fase clara (08:00 e 18:00), não sendo possível calcular a produtividade da fase clara para este dia de cultivo. Neste segundo experimento os nutrientes supostamente não foram um fator limitante para o crescimento, uma vez que foi adicionado nutrientes ao longo do cultivo, permanecendo a cultura sempre em fase exponencial.

Figura 12 – Relação entre a produtividade na fase clara e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



A seta vermelha indica o dia em que a cultura foi diluída, impossibilitando o cálculo da produtividade da fase clara.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

Para suprir a demanda energética da célula na ausência de luz, com processos de manutenção do metabolismo, parte do estoque de carbono armazenado durante o período fotossinteticamente ativo pode ser consumido durante à noite. As microalgas realizam constantemente o processo de respiração celular, porém, durante o dia a perda em biomassa causada pela respiração celular é mascarada pelo elevado ganho proporcionado pela fotossíntese, o que não ocorre no período noturno, onde fica evidente a perda em biomassa decorrente das taxas de respiração celular (RAVEN; BEARDALL, 2016).

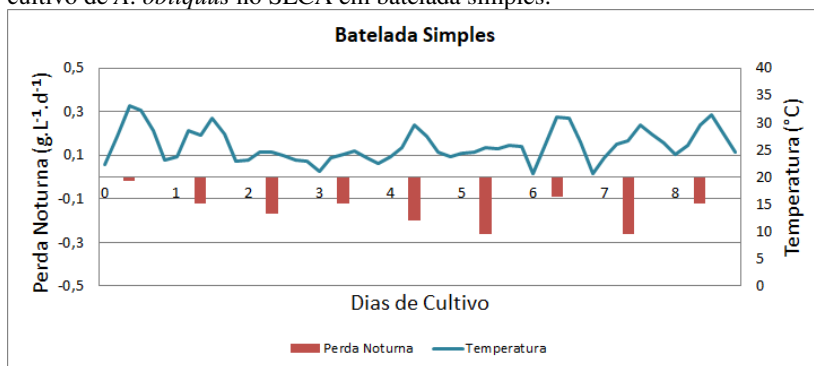
A temperatura da cultura é geralmente um fator limitante para o crescimento durante o dia, influenciando a atividade fotossintética (RICHMOND; GROBBELAAR, 1986), causando um efeito notável sob o metabolismo celular e, conseqüentemente, na respiração celular. A taxa de respiração celular aumenta exponencialmente com o aumento da temperatura, porém, quando a temperatura ainda é consideravelmente alta no período noturno há uma maior perda de biomassa, o que pode ser prejudicial para a produtividade líquida do cultivo e para a produção de biomassa (COHEN, 1999).

A menor e a maior temperaturas registradas para o regime de batelada simples foram, respectivamente, 20,6 °C no T6 de cultivo, e 33,1 °C no primeiro dia de cultivo (Figura 13).

A maior amplitude térmica diária registrada para o regime de batelada simples foi de 10,8 °C, também no primeiro dia de cultivo (Figura 13).

Neste primeiro experimento, a menor perda noturna da biomassa registrada foi no primeiro dia de cultivo (T0), - 0,02 g.L⁻¹ (Figura 13), mesmo em um dia marcado por altas temperaturas, muito provavelmente por conta da fase de adaptação da cultura ao SLCA. Já a maior perda noturna da biomassa foi registrada no T5 e T7 de cultivo, ambas com uma perda de - 0,26 g.L⁻¹ (Figura 13), onde além da temperatura um estresse da cultura por limitação de nutrientes pode ter influenciando esta dinâmica.

Figura 13 – Relação entre a perda noturna da biomassa e a temperatura no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

A menor e a maior temperaturas registradas para o regime semicontínuo foram 18,4 °C no T12 de cultivo, e 36 °C no T6 de cultivo, respectivamente (Figura 14).

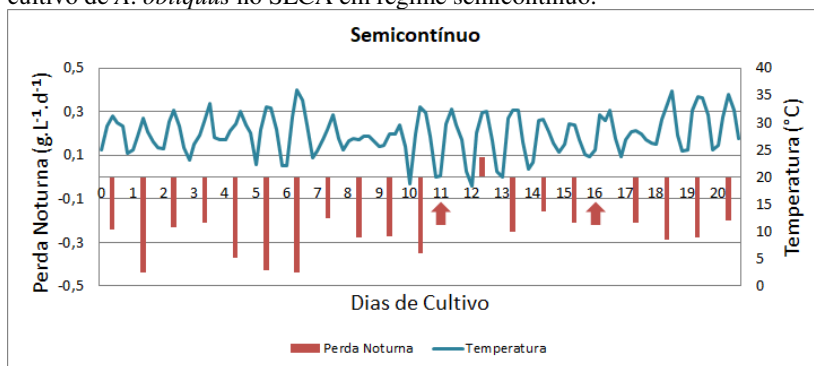
A maior amplitude térmica diária registrada para o regime semicontínuo foi de 14,2 °C no T10 de cultivo (Figura 14).

As flutuações de temperatura no experimento em regime semicontínuo foram muito semelhantes, sendo que a menor perda noturna da biomassa foi registrada no T14 de cultivo, - 0,16 g.L⁻¹ (Figura 14). E a maior perda noturna da biomassa foi registrada no T1 e T6 de cultivo, ambas com uma perda de - 0,44 g.L⁻¹ (Figura 14), onde neste último ocorreram as maiores temperaturas registradas para o cultivo semicontínuo, corroborando a relação entre a temperatura e a perda noturna da biomassa relacionada à respiração neste período.

No T12 de cultivo observou-se que não houve perda noturna da biomassa e sim o contrário, havendo um ganho de 0,09 g.L⁻¹ em biomassa no cultivo (Figura 14). A justificativa mais provável para tal acontecimento é que tenha ocorrido um pequeno erro na determinação da biomassa em peso seco, o que resultou em um falso pequeno crescimento da cultura durante o período noturno.

As setas em vermelho situadas no T11 e T16 de cultivo correspondem aos dias em que houve diluição da cultura, no intervalo entre as duas medições de biomassa da perda noturna (18:00 e 08:00 do dia seguinte), não sendo possível calcular a perda noturna da biomassa para estes dias de cultivo.

Figura 14 – Relação entre a perda noturna da biomassa e a temperatura no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.

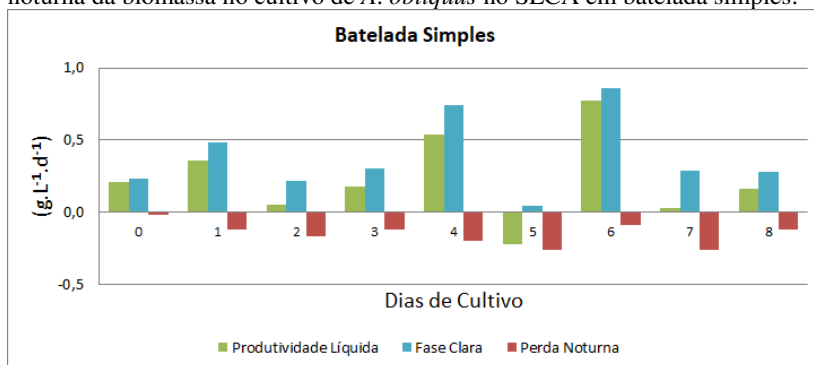


As setas vermelhas indicam os dias em que a cultura foi diluída, impossibilitando o cálculo da perda noturna.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

Nos gráficos comparativos das produtividades líquida, da fase clara e perda noturna da biomassa (Figuras 15 e 16), em ambos os regimes de cultivo, nota-se que nos dias em que a perda noturna aproximou-se do ganho de biomassa durante o dia (produtividade da fase clara), as produtividades líquidas são muito baixas - observado no T2 e T7 da batelada simples (Figura 15), e no T15 e T17 do regime semicontínuo (Figura 16). Nos dias em que a perda noturna foi muito baixa, os valores de produtividades líquida e da fase clara aproximam-se - observado no T6 da batelada simples e no T14 do semicontínuo.

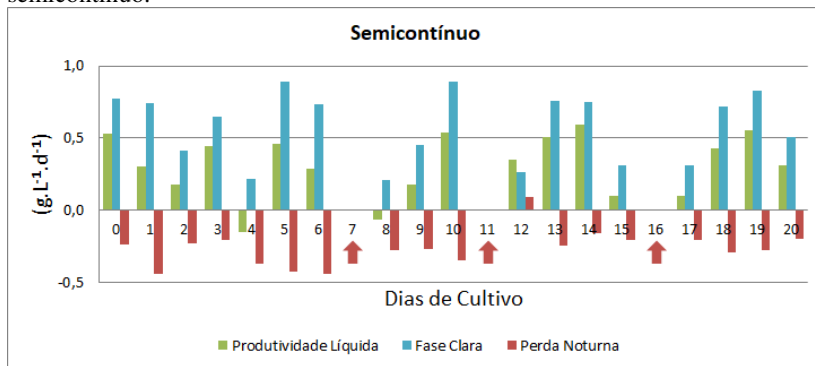
Figura 15 – Comparação entre as produtividades líquida, da fase clara e a perda noturna da biomassa no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

As setas vermelhas situadas no T7, T11 e T16 de cultivo semicontínuo (Figura 16), correspondem aos dias em que houve as diluições da cultura, não sendo possível calcular as produtividades ou perda noturna da biomassa.

Figura 16 – Comparação entre as produtividades líquida, da fase clara e a perda noturna da biomassa no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



As setas vermelhas indicam os dias em que a cultura foi diluída, impossibilitando o cálculo das produtividades e da perda noturna.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

4.3 CONSUMO DE NITRATO

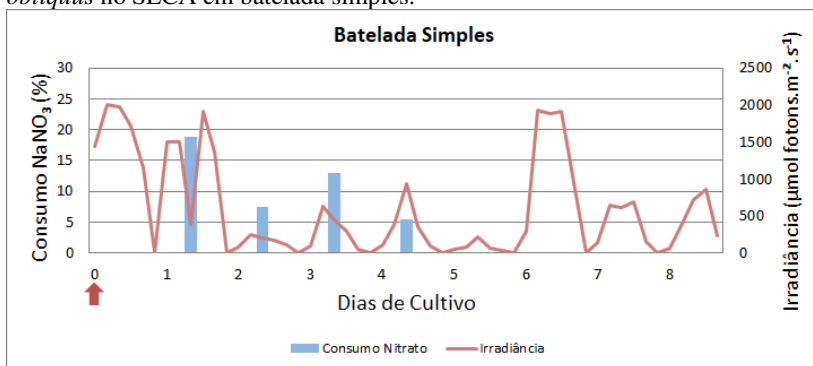
O consumo de nutrientes em ambos os cultivos, batelada simples e semicontínuo, foram aferidos proporcionalmente ao consumo de nitrato do meio. As setas em vermelho nos dois regimes de cultivo (Figuras 17 e 18) indicam os dias em que houve a adição dos nutrientes, não sendo possível mensurar o consumo de nitrato nestes dias.

A intensidade da luz solar varia amplamente de acordo com as estações do ano e em diferentes locais geográficos (VENKATARAMAN; BECKER, 1985), contudo, há uma relação diretamente proporcional entre irradiâncias elevadas e o consumo de nutrientes, quando estes encontram-se disponíveis no meio.

Durante os 8 dias de cultivo em regime de batelada simples (Figura 17), a irradiância máxima registrada foi de 1.999,7 $\mu\text{mol fons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, que ocorreu no primeiro dia de cultivo (T0). No T1 de cultivo foi registrado um consumo de 18,8% do nitrato em relação a concentração no dia anterior, devido ao fato das altas irradiâncias neste dia terem contribuído para uma alta atividade fotossintética da

microalga *A. obliquus*. Nos dias seguintes de cultivo, há um consumo menor do nitrato disponível, variando conforme a irradiância, porém no T4 de cultivo há o esgotamento do nitrato disponível no meio, não sendo mais possível observar o seu consumo (Figura 17).

Figura 17 – Relação entre o consumo de nitrato e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.



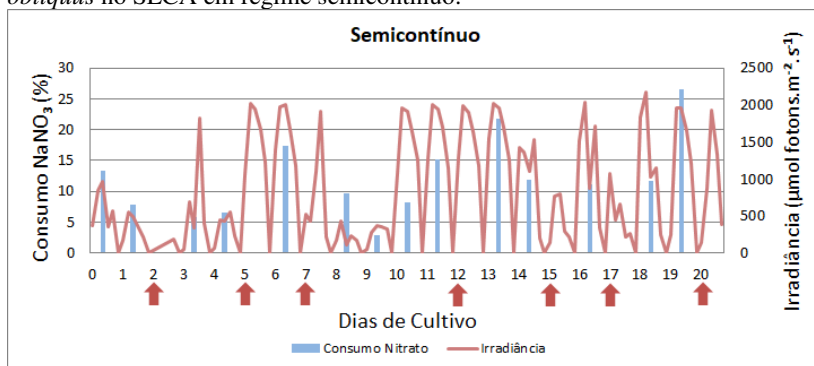
A seta vermelha indica o dia em que houve a adição dos nutrientes na cultura, impossibilitando o cálculo do consumo de nitrato.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

No cultivo em regime semicontínuo (Figura 18), também é possível observar a variação no consumo de nitrato conforme a flutuação das irradiâncias ao longo do período de cultivo. Sendo que as maiores taxas de consumo estão atrelados aos dias com altas irradiâncias, como no T6, T13 e T19 de cultivo, e o menor consumo de nitrato foi registrado nos dias com baixas irradiâncias, como no T1, T4 e T9 de cultivo.

A adição de todos os nutrientes que compõe o meio de cultura LCA-AD, indicadas pelas setas vermelhas (Figura 18), ocorreu sempre que a cultura encontrava-se com baixa concentração de nitrato ($< 20 \text{ mg.L}^{-1}$) ou após cada uma das três diluições, sendo assim, os nutrientes possivelmente não caracterizaram-se como um fator limitante para o crescimento da cultura neste regime de cultivo.

Figura 18 – Relação entre o consumo de nitrato e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



As setas vermelhas indicam os dias em que houve a adição dos nutrientes na cultura, impossibilitando o cálculo do consumo de nitrato.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

4.4 CLOROFIA *a* E CAROTENOIDES TOTAIS

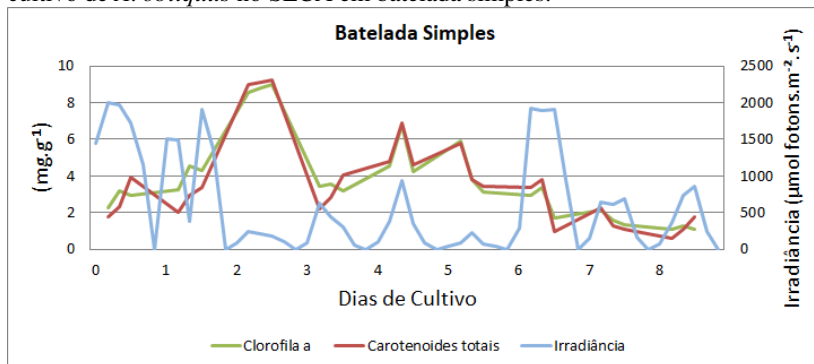
As clorofilas *a* e *b* são os principais pigmentos porfirínicos para o gênero *Scenedesmus* (DANTAS, 2013). A clorofila *a* está presente em todos os organismos fotoautotróficos oxigênicos, como principal pigmento fotossintético, enquanto que a clorofila *b* desempenha um papel de pigmento acessório, permitindo que outros comprimentos de onda do espectro luminoso – além daqueles específicos da clorofila *a* – sejam usados para aumentar a eficiência fotossintética (MASOJÍDEK et al., 2004).

Os carotenoides desempenham importante função no aparelho fotossintético, dentre elas destaca-se o seu papel como moléculas necessárias à proteção contra o excesso de irradiância (MASOJÍDEK et al., 2004). Os principais carotenoides encontrados na microalga *Acutodesmus obliquus* são os derivados oxigenados dos carotenos (xantofilas), como neoxantina, loroxantina, violaxantina e luteína, além do hidrocarboneto β -caroteno (DANTAS, 2013). Dentre estes, o β -caroteno pode desempenhar funções protetoras, enquanto a violaxantina atua no ciclo da xantofila, e sua função é a proteção contra fotoinibição em condições de alta irradiância, atuando no processo de dissipação do excesso de energia das clorofilas excitadas (TAKAICHI, 2011). A luteína também possui função fotoprotetora, desativando o estado de excitação das clorofilas (JAHNS; HOLZWARTH, 2012).

No cultivo em regime de batelada simples, foi possível notar que a quantidade de clorofila *a* (em mg.g^{-1}) seguiu um padrão inversamente proporcional à intensidade luminosa (Figura 19). Esse é um mecanismo de adaptação bastante conhecido, onde sob baixas intensidades luminosas há um aumento na quantidade de clorofila *a*, com o intuito de aumentar a eficiência na captação de luz (MIRANDA, 2011). Esse efeito ficou bem evidente no T2 de cultivo, onde a irradiância máxima alcançou $241,5 \mu\text{mol fotons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e a quantidade de clorofila *a* atingiu um pico de 9 mg.g^{-1} . O inverso foi observado no T6 de cultivo, onde a irradiância máxima alcançou $1.928,9 \mu\text{mol fotons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e a quantidade de clorofila *a* atingiu apenas $3,39 \text{ mg.g}^{-1}$ (Figura 19). Há também uma tendência da quantidade de carotenoides totais acompanhar o perfil de clorofila *a* devido à sua função fotoprotetora, evitando que haja uma fotoxidação da clorofila em caso de um aumento abrupto de irradiância.

Ao final do período de cultivo em regime de batelada simples, a limitação do crescimento da cultura pela falta de nutrientes parece ter afetado as quantidades de clorofila *a* e carotenoides totais, onde, mesmo com baixas intensidades luminosas não houve aumento destes pigmentos, pois além da luz e do aparato fotossintético, a disponibilidade de nutrientes é fundamental para que ocorra a fotossíntese.

Figura 19 – Relação entre a clorofila *a*, os carotenoides totais e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em batelada simples.

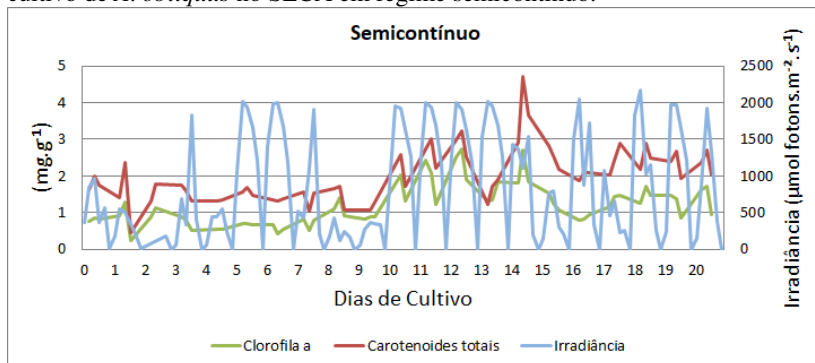


Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

No cultivo em regime semicontínuo, também foi possível observar o efeito das altas irradiâncias no decréscimo da quantidade de clorofila *a*. Diferentemente do cultivo em batelada simples, no cultivo semicontínuo foram observados dias consecutivos com flutuações muito

altas na irradiância, o que refletiu em um aumento na quantidade de carotenoides totais (Figura 20), o que parece indicar que estes pigmentos estavam exercendo sua função de fotoproteção (MIRANDA, 2011).

Figura 20 – Relação entre a clorofila *a*, os carotenoides totais e a irradiância no cultivo de *A. obliquus* no SLCA em regime semicontínuo.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

4.5 COMPARAÇÃO ENTRE REGIMES DE CULTIVO

Os três experimentos em diferentes regimes de cultivo, batelada simples e semicontínuo, desenvolvidos neste trabalho, e batelada alimentada, desenvolvido por Venâncio (2016), não foram realizados simultaneamente devido a uma limitação da estrutura física do LCA, sendo que o experimento em regime de batelada alimentada foi realizado entre abril e maio de 2016, e os experimentos em regimes de batelada simples e semicontínuo foram realizados entre abril e maio de 2017. Ainda assim é possível fazer comparações entre eles, pois as condições não controladas e de grande influência no andamento do cultivo como irradiância e temperatura podem ser consideradas semelhantes.

Comparando-se os três regimes de cultivo distintos, foi possível notar que no experimento em regime de batelada simples foi alcançada a menor produtividade e a menor produção de biomassa (Tabela 2), mesmo quando comparado proporcionalmente aos dias de cultivo. Isso pode ser devido a uma limitação nutricional da cultura, fato inerente a este regime de cultivo. Já na batelada alimentada, observou-se os maiores valores de produtividade, porém não de produção de biomassa, onde o modo semicontínuo mostrou-se o mais eficiente regime de cultivo para a obtenção de biomassa (Tabela 2). Esse resultado foi

possível porque a biomassa obtida com o cultivo semicontínuo foi resultante do somatório das biomassas separadas durante cada uma das três diluições com a biomassa da cultura ao final do período de cultivo, enquanto que a biomassa obtida com o cultivo em batelada alimentada foi resultante apenas da biomassa da cultura ao final do período de cultivo. Além disso, o cálculo de produtividade da batelada alimentada é feito através de uma média aritmética simples, enquanto que no regime semicontínuo o cálculo de produtividade é feito através de uma média aritmética ponderada, por conta das diluições, onde valores menores de produtividades diárias podem receber um peso maior e influenciar diretamente as médias de produtividade. Sendo assim, uma produtividade maior não necessariamente reflete em uma maior produção de biomassa.

Tabela 2 – Comparação de produtividades, perda noturna e produção de biomassa da microalga *Acutodesmus obliquus* no SLCA entre os regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo.

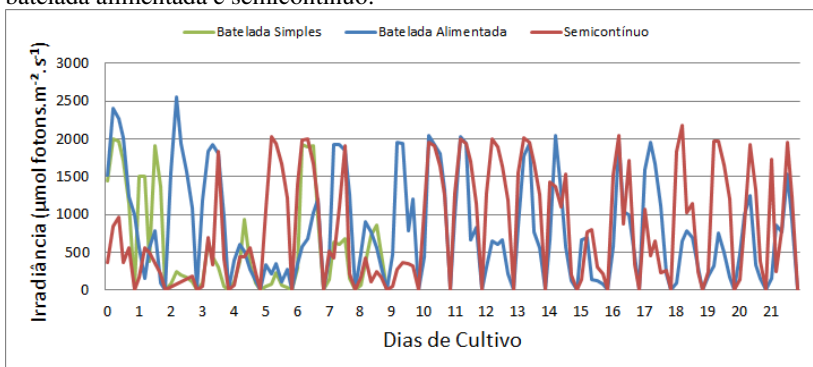
Regimes de Cultivo	Tempo de Cultivo	Prod. Líquida (g.L ⁻¹ .d ⁻¹)	Prod. Fase Clara (g.L ⁻¹ .d ⁻¹)	Perda Noturna (g.L ⁻¹ .d ⁻¹)	Produção Total (g)
Batelada Simples	8 d	0,23	0,38	- 0,15	400,64
Batelada Alimentada	21 d	0,46	0,68	- 0,22	1.454,08
Semicontínuo	21 d	0,32	0,58	- 0,26	1.551,24*

OBS: * Este valor refere-se ao somatório das biomassas obtidas durante as diluições e da biomassa obtida ao final do experimento em regime semicontínuo.

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

Comparando-se a variação das irradiâncias ao longo dos três experimentos (Figura 21), é possível observar que as flutuações ao longo dos cultivos foram próximas em sua maioria. Nos dias em que ocorreram diferenças significativas nas irradiâncias, houve um certo equilíbrio entre os regimes de cultivo no número de dias em que foram observadas essas diferenças. Sendo que no cultivo em regime de batelada alimentada foram registrados os maiores valores de irradiância no T0, T2, T9 e T17 de cultivo, e no regime semicontínuo os valores de irradiância foram significativamente maiores no T5, T12, T18 e T19 de cultivo (Figura 21).

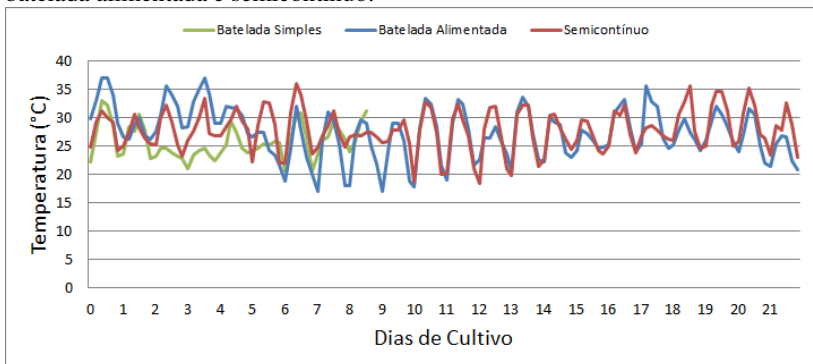
Figura 21 – Comparação entre as irradiâncias nos regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

A variação de temperatura das culturas durante os três experimentos realizados no SLCA se manteve, predominantemente, entre 20 e 35 °C (Figura 22), com os regimes de batelada alimentada e semicontínuo mostrando flutuações muito próximas no início e no final dos experimentos.

Figura 22 – Comparação entre as temperaturas nos regimes de batelada simples, batelada alimentada e semicontínuo.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

4.6 ANÁLISE DE CUSTO DE PRODUÇÃO DA BIOMASSA

Para a comparação do custo de produção da biomassa nos cultivos realizados em regime de batelada simples e semicontínuo a biomassa produzida foi padronizada para 1 kg (em peso seco). Os

fatores considerados foram: inóculo, nutrientes para o meio de cultura, água, energia, CO₂ e o custo de depreciação do SLCA.

Reconhecidamente o custo de produção das culturas de *A. obliquus*, para emprego como inóculo no SLCA, tem um custo elevado em relação ao que é relatado em situações comerciais (de outras espécies). Isto se deve ao LCA ser uma estrutura planejada essencialmente para fins de pesquisa, portanto, entende-se que este valor não seria relevante para esta análise de custo, bastando saber apenas quantas vezes este inóculo teria que ser produzido ou quantas vezes o seu valor teria que ser pago, dentro de um mesmo período de tempo, para cada um dos regimes de cultivo.

Os nutrientes utilizados neste trabalho foram todos de padrão analítico, e o seu custo foi avaliado com base nos valores dos reagentes necessários para a preparação das soluções estoques do meio de cultura LCA-AD (Tabela 1). O CO₂ consumido também teve o seu custo avaliado com base no valor pago pelo LCA em um cilindro de 25 kg deste gás.

Os valores gastos com água e energia elétrica, em ambos os experimentos, foram calculados com base nos valores cobrados pelas companhias responsáveis pela distribuição destes serviços para o estado de Santa Catarina, Casan e Celesc, respectivamente.

O custo de depreciação é definido como a perda do valor de um bem ao longo de um período de tempo, seja pela ação da natureza, pelo uso e também pela falta de uso deste bem. Desta forma, o custo de depreciação do SLCA foi avaliado com base no Anexo III da Instrução Normativa RFB Nº 1700, de 14 de março de 2017, que dispõe sobre o prazo de vida útil e as taxas anuais de depreciação. O anexo não abrange sistemas de cultivo de algas, mas dispõe sobre Instalações no geral, com prazo de vida útil de 10 anos e taxa anual de depreciação de 10% (RECEITA FEDERAL DO BRASIL, 2017).

Neste trabalho, os insumos necessários para a produção de 1 kg de biomassa seca, em regime de batelada simples, foram: 2,5 vezes o custo de aquisição ou produção de 40 L de inóculo de *A. obliquus*; 15,305 L de nutrientes (soluções estoque do meio de cultura LCA-AD); 16,22 kg de CO₂; 0,790 m³ de água; 1440 kWh de energia; e o custo de depreciação do SLCA durante os 24 dias de cultivo e intervalos de limpeza do sistema, pois para cada ciclo de cultivo é necessário um intervalo de 2 dias para limpeza e preparação do SLCA para um novo ciclo (Tabela 3). Para a produção da mesma biomassa em regime semicontínuo, os insumos necessários foram: 1 vez o custo de aquisição ou produção de 40 L de inóculo de *A. obliquus*; 22,019 L de nutrientes

(soluções estoque do meio de cultura LCA-AD); 10,12 kg de CO₂; 0,534 m³ de água; 1008 kWh de energia; e o custo de depreciação do SLCA durante os 14 dias de cultivo (Tabela 3).

Sendo assim, o custo de produção de 1 kg de biomassa (em peso seco) da microalga *Acutodesmus obliquus*, em regime de batelada simples, foi de R\$ 890,95 reais. Já a mesma situação para o cultivo em regime semicontínuo, o custo de produção foi de R\$ 617,29 reais (Tabela 3).

Tabela 3 – Custo de produção de 1 kg de biomassa (em peso seco) da microalga *Acutodesmus obliquus* no SLCA em dois regimes de cultivo, batelada simples e semicontínuo.

Custo de Produção de 1 kg de Biomassa					
Fatores	Unidade	Batelada Simples	Valor R\$	Regime Semicontínuo	Valor R\$
Inóculo	Quantidade e	2,5	X	1	X
Nutrientes	L	15,305	20,87	22,019	30,02
CO ₂	kg	16,224	162,24	10,12	101,17
Água	m ³	0,790	7,70	0,534	5,20
Energia	kWh	1440	621,24	1008	434,87
Depreciação do SLCA	R\$/10 anos	24 dias de uso	78,90	14 dias de uso	46,03
TOTAL	-	-	890,95	-	617,29

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

Cabe ressaltar que para manter a circulação das culturas foi empregada uma motobomba de 2,0 CV (Pentair modelo BPF-051, 3.000 W) e que, esta foi adequada para a vazão requerida (até 24 m³.h⁻¹), entretanto, o equipamento é próprio para sistemas com altura manométrica de até 26 mca, sendo que no SLCA a altura manométrica não ultrapassa 1 mca. Assim, o elevado gasto com energia elétrica poderia ter sido reduzido (estimativa entre 1/3 a 1/4) com o emprego de uma motobomba mais eficiente.

Comparando-se a biomassa produzida nos regimes de batelada simples e semicontínuo, além da diferença no custo dos insumos entre os dois cultivos e no tempo para a produção da mesma quantidade de biomassa, outro fator relevante pode ser a variação na composição bioquímica da biomassa. Segundo Ackman e Kean-Howie (1995), ao ser analisada a composição de ácidos graxos de uma espécie microalgal deve ser levada em consideração a fase da curva de crescimento em que

a cultura se encontra. Esse período para separação da biomassa é descrito como sendo crítico, uma vez que as microalgas seguem uma fase de crescimento exponencial que pode se deslocar para uma fase estacionária, podendo haver alterações importantes na composição desta biomassa. Ao final da fase de crescimento exponencial, a maioria das microalgas contém: 30-40% de proteínas, 10-20% de lipídeos e 5-15% de carboidratos. Porém, quando a cultura é levada até que atinja a fase estacionária a composição bioquímica (ou centesimal) das células microalgais pode sofrer mudanças expressivas, chegando a dobrar a porcentagem de carboidratos às custas de proteínas, devido a uma limitação do nitrato (GUEDES; MALCATA, 2012). De acordo com estudos realizados por Lemos (2012) com a microalga *Scenedesmus* sp., houve um aumento significativo na porcentagem de lipídeos totais nas células durante a fase estacionária, variando de 20,2% ao fim da fase exponencial (T12) para 29% na fase estacionária (T18). Segundo Creswell (2010), a biomassa destinada à alimentação deve ser separada durante a fase exponencial de crescimento, pois na fase estacionária, por conta do encaminhamento da cultura para a fase senescente, pode ocorrer o rompimento da parede celular, o que favorece a proliferação de outros micro-organismos, inclusive bactérias patogênicas.

5 CONCLUSÕES

O regime de cultivo semicontínuo no SLCA mostrou melhor desempenho, permitindo maior produção de biomassa em comparação com os regimes de batelada.

A biomassa máxima alcançada na cultura de *Acutodesmus obliquus* no SLCA em batelada simples foi $3,13 \text{ g.L}^{-1}$ (em peso seco) em 8 dias de cultivo, com produtividade líquida média de $0,23 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, obtendo uma produção de 400,64 g de biomassa em peso seco. A disponibilidade de nutrientes mostrou-se um fator limitante para o crescimento da cultura em batelada simples.

No cultivo em regime semicontínuo no SLCA foram realizados 4 ciclos de cultivo, intercalados por 3 diluições, onde a biomassa variou entre $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ ($\pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$, biomassa inicial) e $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ ($\pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$, biomassa de corte) para cada ciclo de cultivo, com produtividade líquida média de $0,32 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, obtendo uma produção de 1.551,24 g de biomassa (em peso seco) em 21 dias de cultivo.

As condições ambientais de cultivo tiveram influência na produtividade volumétrica das culturas, com irradiâncias altas decorrendo em maiores produtividades na fase clara, e baixas temperaturas propiciando menores perdas noturnas da biomassa.

A produção de biomassa da microalga *Acutodesmus obliquus* em regime semicontínuo no SLCA mostrou-se vantajosa tanto a nível econômico, quanto à qualidade da biomassa obtida para alimentação e o tempo de cultivo.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para trabalhos futuros sugere-se um enfoque na redução da perda noturna da biomassa, o que gerou uma diminuição da produtividade alcançada no SLCA em regime semicontínuo. Algumas propostas seriam o armazenamento da cultura no reservatório do SLCA durante o período noturno e/ou o resfriamento da cultura. Esse resfriamento da cultura levaria a uma redução do metabolismo das células e, conseqüentemente, da taxa de respiração celular, promovendo uma menor perda noturna da biomassa. Caso a cultura fosse armazenada no reservatório, para que não haja uma diminuição do oxigênio disponível na cultura e, em consequência, a morte das células microalgais, é necessário que a cultura seja aerada com ar atmosférico, promovendo a reincorporação do oxigênio consumido pela respiração das células microalgais. Outra proposta seria a instalação de iluminação artificial por baixo da superfície de cultivo do SLCA, possibilitando que as microalgas realizem fotossíntese mesmo no período noturno, o que poderia contrabalançar (ou anular) a perda noturna, ou até mesmo permitir o aumento da biomassa na cultura.

REFERÊNCIAS

- ACKMAN, R. G.; KEAN-HOWIE, J. Fatty Acids in Aquaculture: Are ω -3 Fatty Acids Always Important? In: LIM, C.; SESSA, D. J. (eds.) **Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture**. Champaign, IL: AOCS Press, 1995. p. 82-104.
- ADAMS, C.; GODFREY, V.; BUGBEE, B.; WAHLEN, B.; SEEFELDT, L. Understanding precision nitrogen stress to optimize the growth and lipid content tradeoff in oleaginous green microalgae. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 188-194, 2013.
- ANDRADE, D. S.; FILHO, A. C. (ed.) **Microalgas de Água Continentais**: coleção IPR de microalgas. v. 3. Londrina: IAPAR, 2014. 57 p.
- BAKY, H. H. A. El; BAROTY, G. S. El; BOUAID, A.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J. Enhancement of lipid accumulation in *Scenedesmus obliquus* by Optimizing CO₂ and Fe³⁺ levels for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 119, p. 429-432, 2012.
- BASU, S.; ROY, A. S.; MOHANTY, K.; GHOSHAL, A. K. CO₂ biofixation and carbonic anhydrase activity in *Scenedesmus obliquus* SA1 cultivated in large scale open system. **Bioresource Technology**, v. 164, p. 323-330, 2014.
- BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 304 p.
- BISCHOFF, H. W.; BOLD, H. C. Phycological Studies, IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. **The University of Texas Publication**, n. 6318, p. 1-95, 1963.
- BOLD, H. C. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 76, n. 2, p. 101-108, 1949.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, n. 70, p. 313-321, 1999.

BOROWITZKA, M. A.; MOHEIMANI, N. R. **Algae for Biofuels and Energy**. 5. ed. London: Springer, 2013. 288 p.

CRESWELL, L. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. **Southern Regional Aquaculture Center**, n. 5004, p. 1-13, 2010.

COHEN, Z. **Chemicals from Microalgae**. 1. ed. London: Taylor & Francis, 1999. 419 p.

DANTAS, D. M. M. **Atividades Biológicas das Preparações Obtidas das Clorofíceas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* Chodat e suas Potenciais Aplicações Biotecnológicas**. 2013. 127 p. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DORTCH, Q.; CLAYTON, J. R.; THORESEN, S. S.; AHMED, S. I. Species differences in accumulation of nitrogen pools in phytoplankton. **Marine Biology**, n. 81, p. 237-250, 1984.

GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. 2012. In: MUCHLISIN, Z. A. (ed.) **Aquaculture**, InTech, DOI: 10.5772/30576. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/aquaculture/nutritional-value-and-uses-of-microalgae-in-aquaculture>>. Acesso em: 02 nov. 2017.

GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W. **Algae**. 2. ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2009. 720 p.

HAKALIN, N. L. S. **Otimização das Condições de Cultivo da Microalga *Scenedesmus* sp. para a Produção de Biodiesel**. 2014. 170 p. Tese (Doutorado) – Curso de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

HO, S. H.; CHEN, Y. D.; CHANG, C. Y.; LAI, Y. Y. CHEN, C. Y.; KONDO, A.; REN N. Q.; CHANG, J. S. **Feasibility of CO₂ mitigation and carbohydrate production by microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N used for bioethanol fermentation under outdoor**

conditions: effects of seasonal changes. 2017. Biotechnology for Biofuels. Disponível em: <<https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13068-017-0712-5?site=biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com>>. Acesso em: 25 out. 2017.

HUMPHREY, G. F. Photosynthetic characteristics of algae grown under constant illumination and light-dark regimes. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 40, p. 63-70, 1979.

JAHNS, P.; HOLZWARTH, A. R. The Role of the Xanthophyll Cycle and of Lutein in Photoprotection of Photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 182-193, 2012.

JEFFREY, S. W.; HUMPHREY, G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, v. 167, p. 191-194, 1975.

KANEMOTO, F. T. **Otimização de sistema de cultivo de baixo custo de *Nannochloropsis gaditana* Lubián 1982 para produção de biodiesel**. 2012. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. (eds.) Manual on the production and use of live food for aquaculture. **FAO Fisheries Technical Paper**, n. 361. Rome, FAO. 1996. 295 p.

LEE, Y. K. Microalgae Cultivation Fundamentals. In: BUX, F.; CHISTI, Y. (eds.) **Algae Biotechnology: Products and Processes**. Cham Switzerland: Springer, 2016. p. 1-19. (Green Energy and Technology).

LEE, R. E. **Phycology**. 4. ed. New York: Cambridge University Press, 2008. 560 p.

LEMOES, J. S. **Desenvolvimento de Sistema de Tratamento e Reciclagem de Meio de Cultivo de Microalgas para Produção de Biodiesel**. 2012. 85 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMA, 2006. 588 p.

MANDAL, S.; MALLICK, N. Biodiesel Production by the Green Microalga *Scenedesmus obliquus* in a Recirculatory Aquaculture System. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 16, p. 5929-5934, 2012.

MASOJÍDEK, J.; KOBLÍŽEK, M.; TORZILLO, G. Photosynthesis in Microalgae. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 20-39.

MIRANDA, M. A. C. N. **Efeitos de Diferentes Intensidades Luminosas no Crescimento e Ecofisiologia de Duas Cianobactérias Formadoras de Florações**. 2011. 73 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

PANIAGUA-MICHEL, J. Cultivos Masivos de Microalgas. In: ALVEAL, K.; FERRARIO, M. E.; OLIVEIRA, E. C.; SAR, E. (eds.) **Manual de Métodos Ficológicos**. Concepción: Universidad de Concepción, 1995. p. 275-295.

POWELL, N.; SHILTON, A.; CHISTI, Y.; PRATT, S. Towards a luxury uptake process via microalgae: Defining the polyphosphate dynamics. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4207-4213, 2009.

RAVEN, J. A.; BEARDALL, J. Dark Respiration and Organic Carbon Loss. In: BOROWITZKA, M. A.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. (eds.) **The Physiology of Microalgae**. 1. ed. Cham Switzerland: Springer, 2016. p. 129-142.

RECEITA FEDERAL DO BRASIL. Instrução Normativa RFB nº 1700, de 14 de março de 2017. **Dispõe Sobre a Determinação e o Pagamento do Imposto Sobre a Renda e da Contribuição Social Sobre o Lucro Líquido das Pessoas Jurídicas e Disciplina o Tratamento Tributário da Contribuição para o PIS/Pasep e da Cofins no que se Refere às Alterações Introduzidas pela Lei nº 12.973, de 13 de maio de 2014**. Brasília, Disponível em:

<http://normas.receita.fazenda.gov.br/sijut2consulta/link.action?visao=a_notado&idAto=81268#1706802>. Acesso em: 23 out. 2017.

RICHMOND, A. Biological Principles of Mass Cultivation. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 125-177.

RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566 p.

RICHMOND, A.; GROBBELAAR, J. U. Factors Affecting the Output Rate of *Spirulina platensis* with Reference to Mass Cultivation. **Biomass**, v. 10, p. 253-264, 1986.

SANTOS, B. **Estratégias para Aumentar a Produtividade de Biomassa de Microalgas com Carbono Orgânico**. 2016. 104 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SOARES, D. **Avaliação do Crescimento Celular e da Produtividade de Lipídeos de Microalgas Marinhas em Diferentes Regimes de Cultivo**. 2010. 106 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências - Bioquímica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. Spectrophotometric determination of chlorophylls and total carotenoids. In: STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. (eds.) **A Practical Handbook of Seawater Analysis**. 2. ed. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada, 1972. p. 185-199.

TAKAICHI, S. Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. **Marine Drugs**, v. 9, p. 1101-1118, 2011.

TAVARES, L. H. S.; ROCHA, O. **Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos**. São Carlos: RiMa, 2003. 566 p.

TOMASELLI, L. The Microalgal Cell. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 3-19.

TREDICI, M. R. Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 178-214.

VENÂNCIO, H. C. **Produção da Microalga *Scenedesmus obliquus* em um Sistema Laminar de Cultivo de Algas**. 2016. 69 p. TCC (Graduação) – Curso de Engenharia de Aquicultura, Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

XIN, L.; YING, H. H.; KE, G.; XUE, S. Y. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5494-5500, 2010.

VENKATARAMAN, L. V.; BECKER, E. W. **Biotechnology & Utilization of Algae: The Indian Experience**. New Delhi: Department of Science & Technology, 1985. 257 p.

WORMS EDITORIAL BOARD. **WoRMS taxon details: *Acutodesmus obliquus* (Turpin) Hegewald & Hanagata, 2000**. 2015. Disponível em: <<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=623575>>. Acesso em: 14 out. 2017.